

NASKAH PUBLIKASI SKRIPSI

**AKTIVITAS ENZIM TRANSAMINASE DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
HATI TIKUS (*Rattus norvegicus*) WISTAR JANTAN YANG DIBERI FRAKSI N-
HEKSAN DAUN KESUM (*Polygonum minus* Huds.) PASCA INDUKSI
SISPLATIN**



Oleh :

MOHAMMAD DENY INDARTO

I21109007

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2013

**AKTIVITAS ENZIM TRANSAMINASE DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
HATI TIKUS (*Rattus norvegicus*) WISTAR JANTAN YANG DIBERI FRAKSI N-
HEKSAN DAUN KESUM (*Polygonum minus* Huds.) PASCA INDUKSI
SISPLATIN**

NASKAH PUBLIKASI SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura Pontianak**



Oleh :

MOHAMMAD DENY INDARTO

I21109007

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2013

NASKAH PUBLIKASI

**AKTIVITAS ENZIM TRANSAMINASE DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI
TIKUS (*Rattus norvegicus*) WISTAR JANTAN YANG DIBERI FRAKSI N-HEKSAN
DAUN KESUM (*Polygonum minus* Huds.) PASCA INDUKSI SISPLATIN**

Oleh :

MOHAMMAD DENY INDARTO

I 211 09 007

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi

Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran

Universitas Tanjungpura

Tanggal : 10 Juli 2013

Disetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Indri Kusharyanti, M.Sc., Apt.

NIP. 198303112006042001

Isnindar M.Sc., Apt.

NIP. 197809112008012011

Penguji I,

Penguji II,

M.Andrie, M.Sc., Apt.

NIP. 198105082008011008

Hj.Sri Wahdaningsih M.Sc., Apt.

NIP. 198111012008012011

**Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura**

dr. Sugito Wonodirekso, M.S

NIP. 194810121975011001

**AKTIVITAS ENZIM TRANSAMINASE DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HATI TIKUS (*Rattus norvegicus*) WISTAR JANTAN
YANG DIBERI FRAKSI *N*-HEKSAN DAUN KESUM (*Polygonum minus*
Huds.) PASCA INDUKSI SISPLATIN**

ABSTRAK

Sisplatin merupakan obat kemoterapi yang mempunyai efek samping berupa kerusakan hati. Daun kesum merupakan tanaman endemik Kalimantan Barat yang memiliki kandungan antioksidan kuat, diduga dapat mencegah kerusakan hati akibat sisplatin. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui informasi senyawa fitokimia ekstrak metanol dan fraksi *n*-heksan daun kesum, mengetahui kemampuan fraksi *n*-heksan daun kesum dalam mencegah kerusakan hati dengan mengukur kadar enzim transaminase yaitu SGOT, SGPT dan derajat kerusakan hati pasca induksi sisplatin. Simplisia daun kesum dimaserasi menggunakan metanol teknis kemudian difraksinasi menggunakan *n*-heksan *p.a.* Skrining fitokimia menggunakan metode uji tabung. Pengukuran kadar SGOT dan SGPT menggunakan spektrofotometer UV-Vis, serta pengukuran derajat kerusakan hati secara histopatologi berupa degenerasi hidropik, degenerasi lemak, dan nekrosis. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu perlakuan sisplatin 5 mg/kgBB, kontrol CMC 1%, perlakuan dosis I (1,308mg/200grBB), II (2,616mg/200grBB), dan III (5,233mg/200grBB) setiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Teknik analisis data kadar SGOT/SGPT menggunakan *One way ANOVA* dan *Post Hoc Multiple Comparisons (Tukey HD)*. Data uji kerusakan hati menggunakan uji *Mann-Whitney*. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol mengandung alkaloid, polifenol, tanin, flavonoid, triterpenoid, saponin dan fraksi *n*-heksan mengandung polifenol dan triterpenoid. Hasil analisis data menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan daun kesum mampu menurunkan derajat kerusakan hati, kadar SGPT dan SGOT. Namun, perlakuan dosis III menunjukkan kadar SGOT yang melebihi perlakuan sisplatin.

Kata kunci : daun kesum, fraksi *n*-heksan, sisplatin

**TRANSAMINASE ACTIVITY AND LIVER HISTOPATHOLOGY
PROFILE OF WISTAR RATS (*Rattus norvegicus*) TREATED BY KESUM
(*Polygonum minus* Huds.) LEAVES *N*-HEXANE FRACTION AFTER
CISPLATIN INDUCTION**

ABSTRACT

Cisplatin is a chemotherapy agent and can cause side effects such as liver damage. *Kesum* leaves is one of endemic herbs that grow in West Kalimantan which had high antioxidant activities that might be used to reduce liver damage induced by cisplatin. The purpose of this research were to known the phytochemical compound of methanol extract and *n*-hexane fraction of *kesum* leaves, known the ability of *n*-hexane to prevent the liver damage with measuring concentration of SGOT, SGPT and histopathology imaging after induction of cisplatin. The result of phytochemical screening indicated the presence of alkaloids, polyphenol, tannin, flavonoid, steroid-triterpenoids, and saponin. Hepar damage were measured by the concentration of SGOT, and SGPT in serum that use spectrofotometry, also histopathology imaging of hepatosit damage. Rats were divided to 5 groups that consist of 3 rats. The groups were CMC control group, cisplatin control group and extract group dose I (1.308mg/200grBW), II (2.616mg/200grBW), and III (5.233mg/200grBW). SGOT and SGPT were analyzed with One way ANOVA and Post Hoc Multiple Comparisons (Tukey HD) test. Meanwhile, liver damage data using the Mann-Whitney test. Phytochemistry screening shows that methanol extract contain alkaloid, polyphenol, tannin, flavonoid, triterpenoids, saponin and *n*-hexane fraction contain polyphenol and triterpenoid. The analysis of *n*-hexane fraction showed *kesum* leaves decrease levels of SGOT, SGPT and reduce liver damage. However, extract group III showed SGOT level exceeds cisplatin treatment.

Keywords : *kesum* leaves, *n*-hexane fraction, cisplatin

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang berbahaya dan mematikan, pada tahun 2010 jumlah kematian yang disebabkan oleh kanker adalah 13%, yaitu peringkat kedua untuk penyakit yang tidak menular setelah penyakit kardiovaskuler¹. Data *United Nation Against Cancer* memperkirakan akan terjadi lonjakan penderita kanker di dunia yaitu 7,6 juta kematian menjadi 17 juta pada 2030. Rata-rata banyaknya penderita kanker adalah negara berkembang termasuk Indonesia².

Salah satu cara penanganan kanker menggunakan agen kemoterapi. *Cisplatin*, *cisplatinum* atau *cis-diammine-dichloroplatinum* (II) merupakan kemoterapi kanker berbasis logam platinum³, bekerja dengan cara menempelkan diri pada DNA (*deoxyribonucleic acid*) sel kanker dan mencegah pertumbuhannya. Namun, penggunaan cisplatin dapat mengakibatkan toksistas yang seperti hepatotoksik, nefrotoksik, ototoksik, neurotoksik dan lain-lain⁴.

Menurut Omar (2012), cisplatin memberikan efek hepatotoksik yang ditunjukkan dengan peningkatan enzim transaminase dan kerusakan hati. Mekanisme hepatotoksik diduga melalui peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Produksi ROS berlebihan yang disebabkan oleh akumulasi cisplatin dapat mengalahkan pertahanan antioksidan alami sehingga terjadi cedera hati.

Salah satu tanaman yang berpotensi mengatasi efek samping cisplatin adalah tanaman kesum (*Polygonum minus* Huds.). Tanaman kesum merupakan tanaman endemik

Kalimantan Barat yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai pelengkap masakan.

Skrining fitokimia fraksi *n*-heksan mengandung senyawa fenolik dan steroid. Selain itu, kandungan total fenolik pada daun kesum lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak *Zingiber officinale* dan *Curcuma longa*⁵. Beberapa penelitian melaporkan bahwa daun kesum menunjukkan aktivitas antioksidan yang dapat melebihi BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*), mempunyai nilai IC₅₀ yaitu 14,6 µg/ml menggunakan metode DPPH dan 1,2 mg menggunakan metode LDL peroksidase^{6,7,8,9}.

Antioksidan diharapkan mempunyai peran dalam pencegahan hepatotoksik dengan cara mencegah propagasi dari reaksi radikal bebas berupa ROS oleh cisplatin. Penelitian yang mendukung adalah *Polygonum multiflorum* yang masih satu keluarga dengan tanaman kesum (*Polygonum minus* Huds.) menunjukkan efek hepatoprotektor pada tikus yang telah diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄)¹⁰.

Berdasarkan data dan fakta mengenai kandungan dan aktivitas dari tanaman kesum, sampai saat ini belum ada penelitian yang menunjukkan tanaman kesum sebagai hepatoprotektor setelah pemberian kemoterapi cisplatin. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang kemampuan fraksi *n*-heksan daun kesum dalam mencegah kerusakan hati dengan mengukur kadar SGOT, SGPT dan derajat kerusakan hati yang diberi fraksi *n*-heksan pasca induksi cisplatin.

BAHAN PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu berupa bejana maserasi, neraca analitik, spuit injeksi dan oral, ayakan no. 60, penangas air, mikroskop, *centrifuge*, mikropipet, oven, kertas film, blok parafin, mikrotom, *incubator*, desikator, *rotary evaporator*, corong buchner, pompa vakum, cawan penguap, batang pengaduk, termometer, vortex dan spektrofotometer UV-VIS.

Bahan yang digunakan yaitu simplisia daun kesum, pelarut metanol, pelarut etil asetat, pelarut *n*-heksan, kertas saring, kloroform, asam klorida, larutan basa ammonia 1%, asam asetat glasial, pereaksi meyer dan dragendorf, serbuk magnesium, H_2SO_4 , larutan $FeCl_3$ 1%, larutan CMC 1%, *cisplatin*, kit reagen SGOT dan SGPT, organ hati tikus, NaCl fisiologis 0,9%, larutan fiksatif Bouin, alkohol (70%, 80%, 90%, 95%, dan 100%), xylol, paraffin, aquades, pewarna hematoksilin dan eosin.

Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang didapatkan dari peternakan hewan uji UD.WISTAR Bantul, Yogyakarta. Tikus yang digunakan adalah tikus dengan bobot 100 – 200 gram tanpa memiliki cacat fisik.

Tahap Penelitian

Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kesum yang diambil di jalan Purnama, Kelurahan Parit Tokaya, Kecamatan Pontianak Selatan, Kota Pontianak, Provinsi Kalimantan Barat. Sampel yang didapat dideterminasi di

laboratorium biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan (FMIPA) Universitas Tanjungpura. Sampel yang dipastikan benar kemudian dibuat menjadi simplisia dan dimaserasi menggunakan metanol teknis sebelum di fraksinasi menggunakan *n*-heksan *p.a*.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahapan awal untuk mendeteksi secara kualitatif golongan senyawa bioaktif tertentu dari ekstrak metanol serta pada fraksi *n*-heksan daun kesum dengan menggunakan berbagai pereaksi. Adapun uji skrining fitokimia yang dilakukan meliputi pemeriksaan alkaloid, polifenol, tannin, flavonoid, steroid-triterpenoid dan saponin. Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak metanol daun kesum serta dilakukan juga pada fraksi *n*-heksan ekstrak daun kesum untuk mendapatkan perbandingan senyawa yang terdapat pada ekstrak dan pada fraksi.

Perlakuan Pada Hewan Uji

Hewan Uji dipisahkan menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Kelompok kontrol normal diberikan suspensi CMC 1% selama 10 hari, kelompok perlakuan dosis diberikan suspensi fraksi *n*-heksan dalam CMC 1% dengan dosis I, 308mg/200grBB, 2,616mg/200grBB, dan 5,233mg/200grBB selama 10 hari berurut-urut, kelompok perlakuan sisplatin diberikan *Cisplatin* (Ebewe®) pada hari kelima secara *intra-peritoneal* sebanyak 5mg/kgBB. Semua kelompok perlakuan dosis pada hari kelima diberikan sisplatin secara *intra-peritoneal* dengan dosis 5mg/kgBB. Setelah perlakuan semua hewan diterminasi pada hari ke-10

dimana diambil serum serta organ hati dari tikus.

Pengukuran SGOT dan SGPT

Pengukuran dilakukan dengan metode fotometrik dengan mencampurkan sampel serum dengan reagen. Reagen SGOT dan SGPT yang digunakan adalah *kit* reagen produksi (*BT*[®]) dimana, Serum darah dan reagen SGOT/SGPT dicampur pada temperatur ruangan (15-30°C). Serum darah diambil sebanyak 100 µl, kemudian ditambahkan reagen SGOT/SGPT sebanyak 1000 µl dan diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah 60 detik, absorbansi yang terukur pada dibaca dan dicatat. Campuran tersebut kemudian di bawa kembali ke suhu ruangan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 detik. Absorbansi selanjutnya diukur pada menit ke-1, 2 dan 3. Absorbansi yang terukur kemudian dihitung untuk mendapatkan kadar SGOT/SGPT. kadar SGOT dengan menggunakan rumus : $SGOT (U/L) = \Delta Abs./min \times 1746$. Sedangkan, Kadar SGPT dengan menggunakan rumus : $SGPT (U/L) = \Delta Abs./min \times 1768$.

Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi

Preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Untan. Organ Hati diwarnai dengan

pewarnaan Hematoksilin–Eosin (HE) untuk kemudian diamati dibawah mikroskop.

Pembacaan derajat kerusakan ginjal dilakukan di Laboratorium Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pembacaan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x serta dilakukan oleh 2 orang.

Analisis Data

Hasil data yang diperoleh dari pengukuran kadar SGOT, SGPT dan kerusakan hati diolah dengan menggunakan program komputer SPSS 17.0 for windows. Data SGOT dan SGPT diuji komparatif menggunakan uji statistik ANOVA menggunakan *post-hoc Tukey HSD*. Sedangkan, data kerusakan hati menggunakan uji *Mann-Whitney*.

HASIL DAN PEMBAHASAN Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak metanol dan fraksi *n*-heksan daun kesum ditunjukkan pada tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol daun kesum menunjukkan bahwa ekstrak mengandung seluruh metabolit sekunder yang di uji. Sedangkan, hasil skrining fitokimia dari fraksi *n*-heksan menunjukkan bahwa mengandung senyawa triterpenoid dan polifenol.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia

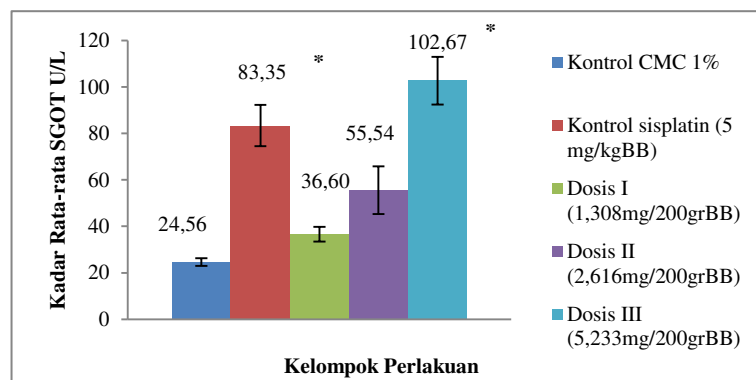
No.	Pemeriksaan	Reagen	Ekstrak Metanol	Fraksi <i>n</i> -heksan
			Hasil	Hasil
1.	Steroid-Triterpenoid	Lieberman Burchard	(+) Cincin Merah (Triterpenoid)	(+) Cincin Merah (Triterpenoid)
2.	Polifenol	FeCl ₃	(+) Hitam	(+) Hitam
3.	Alkaloid	Mayer - Dragendorff	(+) Hijau Keruh (Mayer), Endapan Merah (Dragendorff)	(-) Hijau Pekat
4.	Flavonoid	Serbuk Mg, HCl	(+) Kuning	(-) Hijau Pekat
5.	Tanin	Gelatin 1%	(+) Endapan Putih	(-) Tanpa endapan
6.	Saponin	Air, HCl	(+) Terbentuk busa	(-) Busa cepat hilang

Pemeriksaan SGOT

Hasil pengujian kadar SGOT dapat dilihat pada gambar 1. Kadar rata-rata perlakuan sisplatin mencapai 83,35 U/L, dengan tingginya kadar SGOT di dalam darah dapat dikatakan bahwa telah terjadi kebocoran sel hati yang diakibatkan induksi sisplatin sehingga enzim masuk ke dalam darah. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Ezz-din dkk 2011 yang menyebutkan bahwa pemberian sisplatin dengan dosis 5 mg/kg BB memberikan kenaikan aktivitas SGOT yang signifikan.

Perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dari uji statistik terjadi pada perlakuan sisplatin dibandingkan dengan kontrol CMC, dosis I dan dosis II. Kontrol CMC yang merupakan kontrol normal SGOT mencapai 24,56 U/L. Sedangkan 3 tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) dengan perlakuan sisplatin.

Peningkatan kadar enzim SGOT pada perlakuan sisplatin dikarenakan telah terjadi akumulasi sisplatin di sel hati manusia sehingga menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas (ROS). Sel hati atau hepatosit merupakan jaringan utama yang menjadi sasaran dari peningkatan konsentrasi radikal bebas, karena hati merupakan tempat terjadinya proses metabolisme senyawa xenobiotik yang secara bergiliran di reduksi oleh penambahan antioksidan. *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan oksidan yang sangat reaktif dan mempunyai aktivitas yang berbeda. Dampak negatif senyawa tersebut timbul karena aktivitasnya, sehingga dapat merusak komponen sel yang sangat penting untuk mempertahankan integritas sel. Setiap ROS yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang terus berlanjut sampai ROS itu dihilangkan oleh ROS yang lain.



Gambar 1. Grafik Rataan Kadar SGOT Tikus. Kontrol CMC diberikan selama 10 hari, perlakuan sisplatin diberikan dosis tunggal dan dibiarkan selama 5 hari, kelompok dosis I, II, III fraksi *n*-heksan daun kesum diberikan selama 5 hari dan injeksi tunggal sisplatin pada hari ke-5 kemudian pemberian fraksi *n*-heksan dilanjutkan hingga hari 10. Analisis data dengan *One way ANOVA* dan *Post Hoc Test (Tukey HD)*. Keterangan:*) (perlakuan sisplatin dan dosis III mengalami peningkatan kadar SGOT secara bermakna dibandingkan dengan kontrol CMC, dosis I dan dosis II ($p < 0,05$)).

Peningkatan ROS ini dapat menyebabkan stress oksidatif pada sel sehingga memicu terjadinya kematian sel. Di dalam tubuh sebenarnya mempunyai mekanisme perlindungan yaitu pembentukan antioksidan endogen. Antioksidan endogen tersebut terdiri atas superoksida dismutase (SOD), glutathione peroksidase (GSH-Px), katalase (CAT). Antioksidan endogen ini bekerja untuk mengubah ROS yang sangat radikal menjadi tidak radikal sehingga tidak toksik pada organ hati. Namun, menurut Sadzuka (1992) dan penelitian Zhang dan Lindup (1993) menyebutkan bahwa sisplatin dapat menurunkan sistem pertahanan antioksidan endogen (SOD, GSH-Px, CAT) dan mereduksi antioksidan nonenzimatik glutathione (GSH). Oleh karena itu dibutuhkan antioksidan eksogen yang dapat mengubah akumulasi sisplatin di hati^{11,12}.

Pada dosis I mempunyai kadar rata-rata mencapai 36,60 U/L berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan

perlakuan sisplatin dan tidak jauh berbeda ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kontrol CMC, dengan hasil tersebut menunjukkan bahwa dosis I fraksi *n*-heksan diduga berpotensi sebagai hepatoprotektor karena mampu menghambat peningkatan kadar SGOT akibat pemberian sisplatin yang bersifat hepatotoksik, hal tersebut terjadi dikarenakan pada dosis I fraksi *n*-heksan mengandung metabolit sekunder yang berfungsi sebagai hepatoprotektor yaitu senyawa polifenol dan senyawa triterpenoid.

Senyawa polifenol merupakan senyawa yang terdiri dari minimal 2 cincin fenol. Polifenol termasuk dalam kelas *primary antioxidants*, yaitu senyawa-senyawa fenol yang mampu memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak. Dalam hal ini memberikan atom hidrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Selain dikenal sebagai senyawa antioksidan yang kuat,

menurut Hu (2011) senyawa polifenol juga memiliki kegunaan lain seperti sebagai antihistamin, antiinflamasi serta dapat mencegah terbentuknya TNF- α yang menyebabkan terjadinya nekrosis¹³.

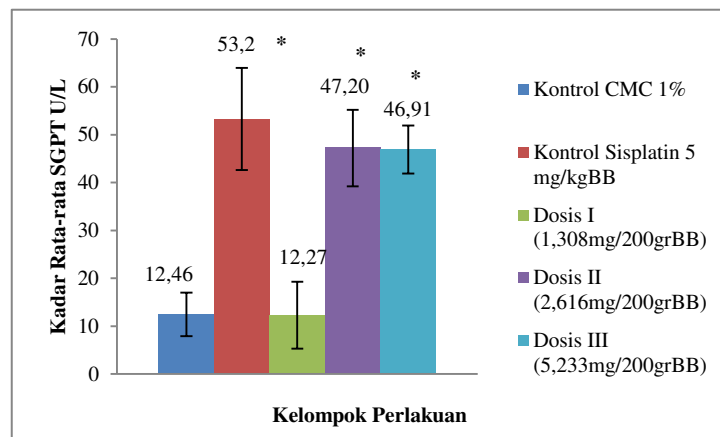
Senyawa lain selain polifenol yang terdapat pula dalam fraksi *n*-heksan daun kesum adalah senyawa triterpenoid. Menurut Neto (2007) beberapa jenis senyawa triterpenoid seperti asam ursolat, memiliki aktivitas antiproliferatif kanker. Aktivitas antiproliferatif ini akan lebih baik bila dikombinasikan dengan senyawa polifenol. Sehingga adanya senyawa triterpenoid dalam fraksi *n*-heksan diduga dapat membantu kerja sisplatin dalam mengatasi proliferasi sel kanker. Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas fraksi *n*-heksan dan sisplatin terhadap sel kanker¹⁴.

Perlakuan dosis II mempunyai kadar rata-rata yaitu 55,54 U/L berbeda ($p > 0,05$) secara analisis dibandingkan dengan perlakuan sisplatin maupun kontrol CMC. Hasil kadar rata-rata SGOT masih dibawah kadar rata-rata perlakuan sisplatin, hal tersebut menyimpulkan bahwa dosis II diduga dapat mencegah kerusakan hepar yang disebabkan oleh sisplatin, namun tidak dapat memperbaiki fungsi jaringan hati yang rusak.

Perlakuan fraksi *n*-heksan dosis III (102,67 U/L) menunjukkan kadar rata-rata SGOT tidak jauh berbeda ($p > 0,05$) perlakuan sisplatin dan berbeda ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol CMC, bahkan kadar SGOT dosis III lebih tinggi dibandingkan perlakuan sisplatin. Kemungkinan hal ini diduga karena senyawa

fenolik dan triterpenoid yang bertanggung jawab sebagai antioksidan pada dosis III fraksi *n*-heksan daun kesum jumlahnya sangat besar (dibandingkan dengan kelompok yang lain), sehingga aktivitasnya bukan lagi sebagai antioksidan, tetapi berubah menjadi pro-oksidan. Peristiwa tersebut terjadi pada vitamin C dengan kadar yang tinggi dapat bersifat racun bagi tubuh¹⁵. Vitamin C dapat berfungsi sebagai antioksidan jika kadarnya dalam serum sebesar 5 mg/mL. Sedangkan pada konsentrasi maksimum 50 mg/mL, vitamin C berfungsi sebagai pro-oksidan sehingga dapat membunuh sel kanker, tetapi dapat juga membunuh sel normal¹⁶. Selain itu Wang dkk (2003) menyatakan pada herval *Aster tataricus* terdapat beberapa kandungan seperti kaemferol dan kuersetin yang bersifat pro-oksidan yang ditunjukkan dengan peningkatan kerusakan DNA. Dengan hasil yang ditemukan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kadar toksisitas minimum dari fraksi *n*-heksan daun kesum.

Pengukuran kadar SGOT ini harus dipertegas dengan pengukuran kadar SGPT untuk membuktikan aktivitasnya sebagai hepatoprotektor, karena menurut Aslam (2003), pemeriksaan SGPT merupakan indikator yang lebih baik dalam menganalisis kerusakan yang terjadi pada sel hati karena enzim SGPT sumber utamanya di hati sedangkan enzim SGOT merupakan enzim mitokondria yang banyak terdapat pada jaringan terutama jantung, otot rangka, ginjal dan otak¹⁷.



Gambar 2. Grafik Rataan Kadar SGPT Tikus. Kontrol CMC diberikan selama 10 hari, perlakuan sisplatin diberikan dosis tunggal dan dibiarkan selama 5 hari, kelompok dosis I, II, III fraksi *n*-heksan daun kesum diberikan selama 5 hari dan injeksi tunggal sisplatin pada hari ke-5 kemudian pemberian fraksi *n*-heksan dilanjutkan hingga hari 10. Analisis data dengan *One way ANOVA dan Post Hoc Test (Tukey HD)*. Keterangan:*) (perlakuan sisplatin, dosis II dan dosis III mengalami peningkatan kadar SGOT secara bermakna dibandingkan dengan kontrol CMC dan dosis I ($p < 0,05$)).

Pemeriksaan SGPT

Pengukuran kadar SGPT dapat dilihat pada gambar 2. Kadar SGPT rata-rata perlakuan sisplatin mencapai 53,28 U/L yang merupakan kadar SGPT tertinggi dibandingkan dengan kelompok lain. Hal ini disebabkan karena efek toksik sisplatin yang dapat merusak hati sehingga menyebabkan kadar enzim transaminase yaitu SGPT yang spesifik berada di hati menjadi naik.

Aktivitas SGPT mempunyai keselarasan dengan aktivitas SGOT yaitu terjadi perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dari uji statistik pada perlakuan sisplatin dibandingkan dengan kontrol CMC dan dosis I. Sedangkan, kadar rata-rata dosis II (47,20 U/L) dan dosis III (46,91 U/L) tidak jauh berbeda ($p > 0,05$) secara analisis dibandingkan dengan perlakuan sisplatin namun kadarnya masih dibawah perlakuan sisplatin

hal tersebut menyimpulkan bahwa dosis II dan 3 fraksi *n*-heksan dapat mencegah kerusakan hati, namun tidak dapat memperbaiki jaringan hati pasca induksi sisplatin.

Sedangkan, pada dosis I mempunyai kadar rata-rata 12,27 U/L tidak jauh berbeda ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kontrol CMC sehingga dapat disimpulkan bahwa dosis I fraksi *n*-heksan berpotensi sebagai hepatoprotektor karena dapat mempertahankan kadar SGPT tetap normal walaupun tikus telah diberi perlakuan sisplatin. Hasil tersebut diduga karena fraksi *n*-heksan daun kesum mengandung metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antioksidan, yaitu senyawa fenolik dan triterpenoid.

Histopatologi

Pengamatan kerusakan hepatosit meliputi degenerasi hidropik, degenerasi lemak dan nekrosis. Ketiga kelainan tersebut merupakan kelainan patologi yang paling banyak

ditemukan pada sediaan histopatologi setiap kelompok.

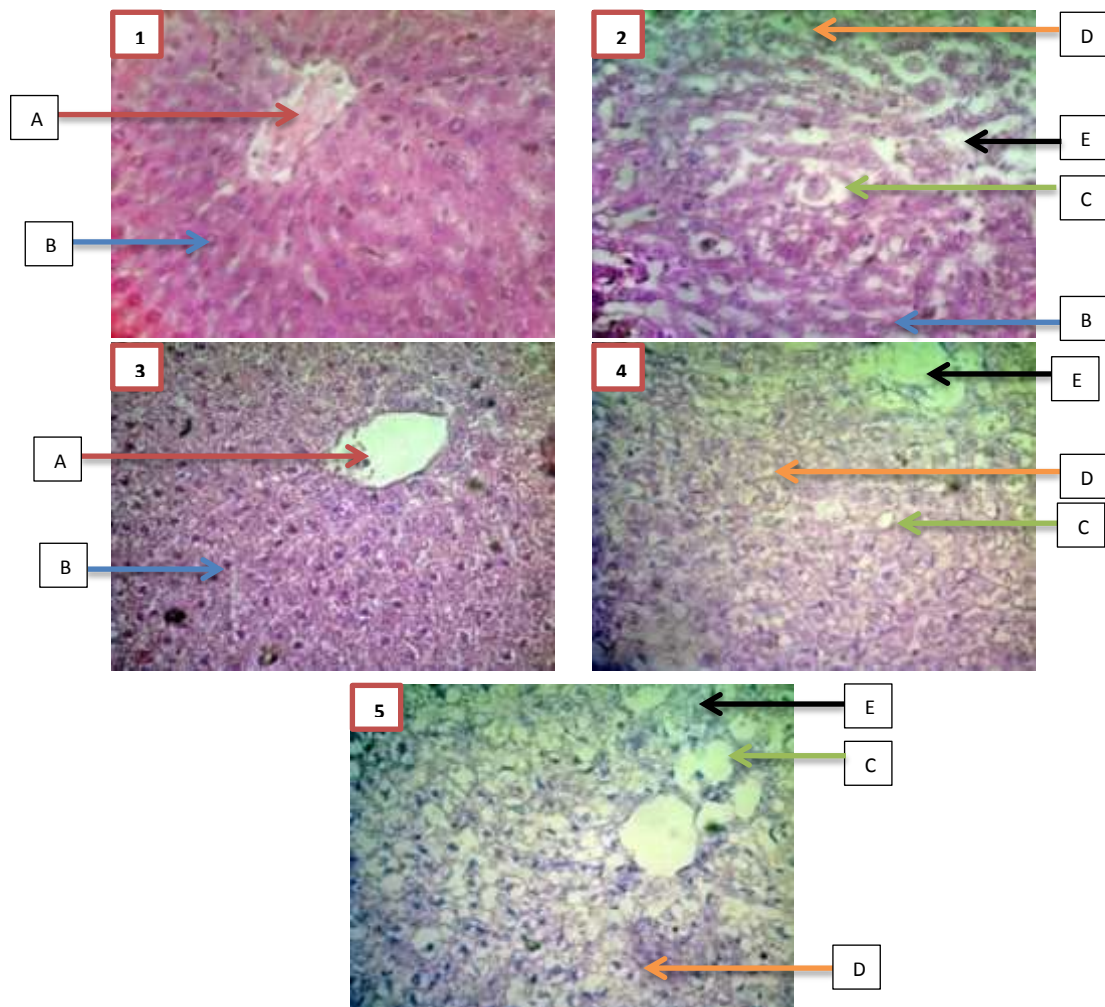
Metode yang digunakan yaitu dengan pemberian skor (skoring) agar dapat mengukur sejauh mana kerusakan yang ditimbulkan maupun pemulihan yang terjadi berdasarkan keadaan sel dan jaringan. Hasil pengamatan histopatologi hati tikus secara umum ditunjukkan pada gambar 3.

Pengamatan terhadap skor kerusakan hepatosit menunjukkan, skor kerusakan hepatosit paling tinggi terdapat pada kelompok perlakuan sisplatin yaitu 68,00. Secara statistik hasil tersebut berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kontrol CMC. Dimana pada perlakuan sisplatin berefek toksik pada sel-sel hepar. Temuan ini sesuai dengan Lu (1995), yang menyatakan bahwa hepar sering menjadi organ sasaran zat toksik karena sebagian besar zat xenobiotik dimetabolisme di hepar¹⁸.

Pemberian sisplatin dengan dosis 5 mg/kg BB pada hari kelima,

menyebabkan kerusakan hepatosit karena perlakuan sisplatin menimbulkan stress oksidatif yang menghasilkan hidrogen peroksida.

Menurut Trisnowati (2009), hidrogen peroksida dapat bereaksi dengan senyawa dalam tubuh dan membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif. Radikal hidroksil tersebut menyebabkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menyebabkan kerusakan membran sel dan kemudian mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan merusak fungsi sel. Karena fungsi sel hepatosit rusak maka hepatosit kehilangan integritas sel dan polaritas sel. Hilangnya polaritas sel menyebabkan redistribusi protein membran Na^+, K^+ -ATPase dan protein lain ke sel hepatosit sehingga terjadi penumpukan lemak dan air pada hepatosit yang ditandai dengan degenerasi pada hepatosit. Selanjutnya terjadi kematian sel secara apoptosis dan nekrosis¹⁹.



Gambar 3. Gambaran Histopatologi hati tikus : (1) kontrol CMC; (2) Perlakuan sisplatin 5 mg/kgBB intraperitoneal dosis tunggal; (3) sisplatin + fraksi *n*-heksan dosis I; (4) sisplatin + fraksi *n*-heksan dosis II; (5) sisplatin + fraksi *n*-heksan dosis III. Keterangan : Vena Sentralis (A); Hepatosit (B); Degenerasi Lemak (C); Degenerasi Hidropik (D);

Menurut Lu (1995), hepatosit adalah jenis sel yang menyusun sebagian besar organ hepar. Hepatosit bertanggung jawab terhadap peran sentral hepar dalam metabolisme. Sel-sel ini terletak di antara sinusoid yang terisi darah dan saluran empedu. Apabila sel hepar mengalami kerusakan yang disebabkan oleh berbagai faktor maka akan terjadi serangkaian perubahan morfologi pada sel hepar. Perubahan tersebut dapat bersifat subletal yaitu degeneratif ataupun

letal berupa nekrotik.

Pada hasil pengamatan perubahan struktur histologis hepatosit diketahui bahwa pada semua kelompok ditemukan adanya perubahan sel berupa degenerasi hidropik, degenerasi lemak dan nekrosis. Perubahan degeneratif adalah perubahan yang prosesnya bersifat reversibel yaitu dapat kembali seperti semula, artinya jika rangsangan yang menyebabkan kerusakan sel dihentikan, maka sel akan kembali sehat seperti saat

sebelum diberi rangsangan. Sebaliknya, nekrosis adalah perubahan yang prosesnya bersifat irreversibel. Sel yang mengalami nekrosis tidak dapat lagi kembali seperti semula. Pada titik akhir nekrosis, sel akan mengalami kematian. Secara teoritis, proses kerusakan sel hepar dimulai dari proses degenerasi dengan ciri pembengkakan sel. Ciri tersebut teramati pada perlakuan perlakuan sisplatin. Perlakuan perlakuan sisplatin tampaknya menyebabkan cairan ekstrasel memasuki sitosol dalam jumlah besar. Menurut Hariyatmi (2004), salah satu perubahan yang diinduksi oleh radikal bebas yaitu perubahan sifat-sifat membran sel dan membran sitoplasmik pada unsur-unsur sel seperti mitokondria dan lisosom yang diakibatkan oleh lemak peroksida. Setelah merusak membran sel, efek toksikan dapat juga mencapai inti dan merusaknya, yang mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan lama kelamaan bermuara pada nekrosis. Nekrosis ialah degradasi atau disorganisasi seluler yang irreversibel atau kematian sel jaringan tubuh, dengan perubahan morfologi yang nyata pada inti sel sebagai piknosis, karioreksis, dan kariolisis²⁰.

Perlakuan dosis I, dosis II, dan dosis III mengalami perbaikan, dimana perbaikan yang terjadi tergantung pada besar dosis yang diberikan karena antara perlakuan dengan peningkatan dosis ternyata tidak berbanding lurus dengan besar penurunan derajat kerusakan hati yang terjadi. Hasil perhitungan kerusakan hati selaras dengan kesimpulan aktivitas SGOT dan

SGPT. Dimana, dosis I fraksi *n*-heksan mempunyai efek yang paling baik, karena berbeda signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan sisplatin dan kontrol CMC. Hasil skoring dosis I mempunyai nilai yang lebih kecil dibanding dengan kontrol CMC, hal tersebut diduga terjadi karena tikus yang digunakan saat pengujian tidak bebas toksin sehingga pada kontrol CMC terdapat kerusakan hepar walaupun tidak separah perlakuan sisplatin. Selain itu, diduga bahwa fraksi *n*-heksan dapat mempercepat regenerasi sel hepatosit sehingga jumlah kerusakan yang ditemukan pada perlakuan dosis I sedikit.

Fraksi *n*-heksan dapat mempercepat regenerasi sel hati diduga karena mengandung senyawa triterpenoid yang dalam penelitian Deeb 2010 dibuktikan dapat menghambat aktivitas *Nuclear Factor kappa B* (NF- κ B)²¹. NF- κ B merupakan faktor transkripsi yang meregulasi ekspresi gen yang terlibat dalam proses diferensiasi sel, proliferasi, apoptosis, respon oksidatif, inflamasi dan respon imun. Ketika dalam keadaan non aktif, NF- κ B berada di sitoplasma dan berikatan dengan I κ B (inhibitor kappa beta). NF- κ B terdiri dari dua protein heterodimer yaitu p50 dan p65. Jika mengalami stimulasi dari luar, seperti timbulnya ROS, I κ B yang semula berikatan dengan p50-p65 akan terfosforilasi. Hal ini menyebabkan terbebasnya dimer NF- κ B (p50-p65) dari kompleks sitoplasmik NF- κ B-I κ B menuju nukleus. NF- κ B kemudian terikat pada gen target, menginduksi transkripsi dan gen proinflamasi. Aktivasi NF- κ B meningkatkan

sintesis sitokin seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 dan juga COX-2 (Brand dkk., 1996)²².

Apabila sitokin meningkat maka terjadi perubahan pada sel hepar yang ditunjukkan adanya apoptosis dan atau nekrosis. NF- κ B telah diteliti bersifat *redox-regulated* karena NF- κ B dapat diaktivasi oleh stress oksidatif dan diinhibisi oleh senyawa triterpenoid dengan cara menghambat fosforilasi ikk α /ikk β sehingga NF- κ B tidak akan terlepas dari ikatannya dengan iKB (Deeb dkk., 2010).

Penghambatan NF- κ B yang dapat diperantarai oleh senyawa triterpenoid akan membantu dalam proses pencegahan pembentukan radikal bebas oleh polifenol, yang memiliki kemampuan memberi donor atom hidrogen dengan mekanisme memutus rantai pembentuk radikal, selain itu bisa juga mengikat ion logam transisi sehingga menghambat pembentukan radikal bebas. Sehingga selain dalam mengurangi toksisitas dari sisplatin, fraksi *n*-heksan daun kesum diduga bekerja sinergis dengan sisplatin dalam menghambat proliferasi sel kanker. Aktivitas antioksidan dan penghambatan NF- κ B merupakan mekanisme yang memiliki peranan penting terhadap efek penurunan hepatotoksitas akibat sisplatin. Hal tersebut menjadi potensi untuk penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas NF- κ B pada sel kanker yang diberi sisplatin dan fraksi *n*-heksan daun kesum.

Perlakuan dosis II tidak terdapat perbedaan signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan dengan dosis III. Hasil skoring pada dosis II dan dosis III mempunyai perbedaan yang

signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan sisplatin dan kontrol CMC. Hasil dari dosis II dan dosis III mempunyai tingkat kerusakan dibawah sisplatin, namun diatas kontrol CMC sehingga dapat disimpulkan bahwa dosis II dan dosis III diduga dapat mencegah kerusakan hati akibat sisplatin yang ditunjukkan dengan penurunan derajat kerusakan hepar, namun tidak dapat memperbaiki kerusakan karena kerusakan melebihi kontrol CMC. Hal tersebut selaras dengan hasil yang didapat pada pemeriksaan enzim SGOT dan SGPT pada darah tikus, diduga pada dosis II dan dosis III karena kandungan metabolit sekunder yang terkandung pada fraksi *n*-heksan daun kesum cenderung bersifat prooksidan.

Aktivitas antioksidan dan penghambatan NF- κ B merupakan mekanisme yang diduga memiliki peranan terhadap efek penurunan hepatotoksitas akibat perlakuan sisplatin. Dengan adanya aktivitas antioksidan dari tanaman kesum menjadi salah satu mekanisme pencegahan kerusakan hepatosit setelah paparan senyawa-senyawa hepatotoksik seperti sisplatin yang ditunjukkan dengan menurunnya aktivitas enzim transaminase dan derajat kerusakan hepar.

KESIMPULAN

Golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol daun kesum adalah triterpenoid, polifenol, alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin, sedangkan pada fraksi *n*-heksan golongan metabolit sekunder yang terkandung adalah triterpenoid dan polifenol.

Fraksi *n*-heksan daun kesum dapat menurunkan aktivitas enzim transaminase yaitu kadar SGOT dan SGPT pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi sisplatin, namun kadar SGOT pada dosis III terjadi kenaikan melebihi perlakuan sisplatin.

Fraksi *n*-heksan daun kesum dapat menurunkan derajat kerusakan hepar pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi dengan sisplatin.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] WHO, 2011. *Indonesia- NCD Country Profiles*. World Health Organization.
- [2] Kompas. 2013. *Peringatan Hari Kanker Sedunia*. [Diakses tanggal 8 Februari 2013].
- [3] Ezz-Din D, Mohamed S. Gabry, Abdel Razik H. Farrag, Ahmed E. Abdel Moneim, 2011. Physiological and histological impact of *Azadirachta indica* (neem) leaves extract in a rat model of cisplatin-induced hepato and nephrotoxicity. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5:5499-5506.
- [4] Omar H, Ossam M, Emad A, Ahmed, Sarry Abdel-Ghafar, Sohair Mohammed, Ahmed YN. 2012. Hepatoprotective effects of vitamin C , DPPD, and L-cysteine against cisplatin-induced oxidatives tress in male rats. *J Biol Earth Sci* 2:B28-B36.
- [5] Maizura M, Aminah A, Wan Aida WM. 2011. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Kesum (*Polygonum minus*), Ginger (*Zingiber officinale*) And Turmeric (*Curcuma longa*) Extract. *International Food Research Journal*. 18:526-531.
- [6] Wasman S, Mahmood A, Salehuddin H, Zahra A, Salmah I. 2010. Cytoprotective activities of *Polygonum minus* aqueous leaf extract on ethanol-induced gastric ulcer in rats. *J. Med. Plants Res*. 4: 2658 -2665.
- [7] Ali AM, Mackeen MM, El-Sharkawy SH, Abdul Hamid J, Ismail NH, Ahmad F, Lajis MN. 1996. Antiviral and cytotoxic activities of some plants used in Malaysian indigenous medicine. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci*. 19: 129-136.
- [8] Aronal A, P Nurul H, Ruzita A. 2010. The antioxidant effects of *Cosmos caudatus* and *Polygonum minus* in refrigerated duck meatballs. *International Food Research Journal* 17: 893-904.
- [9] Saputri CF, Jantan I. 2011. Effects of selected medicinal plants on human low-density lipoprotein oxidation, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals and human platelet aggregation. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5: 6182-6191.
- [10] Lee BH, Huang YY, Duh PD, Wu SC. 2011. Hepatoprotection of emodin and *Polygonum multiflorum* against CCl(4)-induced liver injury. *Pharm Biol*.50:351-9.
- [11] Sadzuka Y, Shoji T, Takino Y.1992. Effect of Cisplatin on The Activities of Enzymes which Protect Against Lipid Peroxidation. *Biochem Pharmacol*. 43: 1 873–1 875.
- [12] Zhang JG, Lindup WE. 1993. Role of mitochondria incisplatin-induced oxidative damage exhibited by rat renal cortical slices. *Biochem. Pharmacol*. 45: 2215-2222.

- [13] Hu ML. 2011. Dietary Polyphenol as Antioxidants and Anticancer Agents : More Questions than Answer, *Journal of Food Science and Bioechnology*. 9:142-144.
- [14] Neto C. 2007. Ursolic Acid and Othe Pentacyclic Triterpenoids : Anticancer Activities and Occurrence in Berries, Chapter 2, *Berries and Cancer Prevention*. 8:145-165.
- [15] Julian K. 1969. Cancer and vitamin C what are the fact?. *J Biochem*.5:1-4.
- [16] Yomes T. 2000. Sifat prooksidan dan antioksidan vitamin C dan teh hijau pada sel Khamir *Candida* sp. Y390 berdasarkan peroksidasi lipid. *Skripsi*: Institut Pertanian Bogor.
- [17] Aslam M., Tan CK, Prayitno A. 2003. *Farmasi Klinis (Clinical Pharmacy), Menuju Pengobatan Rasional dan Penghargaan Pilihan Pasien*. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- [18] Lu FC. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi II. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- [19] Trisnowati, D. 2009. Efek Pemberian Jus Buah Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* Linn) terhadap Kerusakan Sel Hati yang Dipapari dengan Minyak Goreng Bekas: *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Negeri Surakarta.
- [20] Hariyatmi. 2004. Kemampuan vitamin E sebagai antioksidan terhadap radikal bebas pada lanjut usia. *J MIPA* 14:52-60.
- [21] Deeb D, Gao X, SA Ali, Barton K, Scott A, Dulchan, Gautam SC. 2010. CDDO-Me : A Novel Synthetic Triterpenoid for treatment of Pancreatic Cancer. *Cancers Journal* 5:1779-1793.
- [22] Brand K, Sharon, Gerhard, Armin. 1996. Activated Transcription Factor Nuclear-Kappa B is Present in The Atherosclerotic Lesion. *J. Clin. Invest* 7:1715-1722.